## (19) 世界知的所有権機関 国際事務局



## 

(43) 国際公開日 2004 年7 月15 日 (15.07.2004)

**PCT** 

## (10) 国際公開番号 WO 2004/058965 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 15/09, 5/10, C12Q 1/02

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2003/016188

(22) 国際出願日:

2003年12月17日(17.12.2003)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願 2002-367272

特願2003-42253

2002年12月18日 (18.12.2002) JP 2003年2月20日 (20.02.2003) JP

- (71) 出願人 および
- (72) 発明者: 玉巻 伸章 (TAMAMAKI,Nobuaki) [JP/JP]; 〒 599-8124 大阪府 堺市 南野田 3 5 2-3 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 西澤 利夫 (NISHIZAWA, Toshio); 〒107-0062 東京都港区 南青山6丁目11番1号 スリーエフ南 青山ビルディング7 F Tokyo (JP).

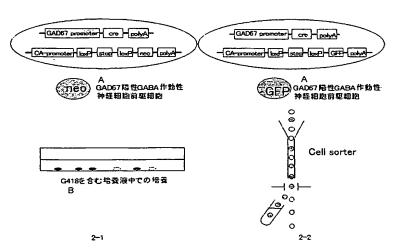
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

## 添付公開書類:

一 国際調査報告書

[続葉有]

- (54) Title: METHOD OF SEPARATING PRECURSOR CELLS PRODUCING GABAERGIC NERVE CELLS ALONE
- (54) 発明の名称: GABA作動性神経細胞のみを生み出す前駆細胞の分離方法



A...GAD67-POSITIVE GABAERGIC NERVE CELL PRECURSOR CELL B...CULTURE IN LIQUID MEDIUM CONTAINING G418

(57) Abstract: To treat epilepsy or schizophrenia by transplanting precursor cells of GABAergic nerve cells into a region with lack or decrease in GABAergic nerve cells in the brain of a patient suffering from the disease, it is intended to provide a method of separating precursor cells of GABAergic nerve cells in an adult or fetal nerve tissue or precursor cells of GABAergic nerve cells derived from embryo stem cells. This method comprises the step of preparing a cell mass containing precursor cells of GABAergic nerve cells, the step of transferring cells having DNA, to which a reporter gene emitting fluorescence detectable *in vivo* is attached, dispersed therein into the downstream of a promoter of a regulatory nerve transmitter GABA synthase GAD67 gene or a GAD65 gene, the step of isolating GABAergic nerve cells and precursor cells of GABAergic nerve cells based on the presence/absence of the fluorescence from the reporter gene, and the step of isolating the precursor cells of GABAergic nerve cells based on proliferative capability.

[続葉有]

2文字コード及び他の略語については、定期発行される 各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語 のガイダンスノート」を参照。



(57) 要約: 癲癇症患者や分裂病患者の脳内でGABA作動性神経細胞が欠如ないしは減少した領域にGABA作動性神経細胞前駆細胞を移植することにより、同疾患の治療を行うことを目的として、成体又は胎児神経組織中のGABA作動性神経細胞前駆細胞、ないしは胚性幹細胞から誘導したGABA作動性神経細胞前駆細胞を分離する方法を提示する。この出願の発明は、GABA作動性神経細胞前駆細胞を含む細胞集団を調製する工程、抑制性神経伝達物質GABAの合成酵素GAD67遺伝子またはGAD65遺伝子のプロモーター下流に、生体でも検出できる蛍光を発するレポーター遺伝子をつないだDNAを分散した細胞に導入する工程、レポーター蛋白の蛍光の有無によりGABA作動性神経細胞とGABA作動性神経細胞前駆細胞を単離する工程、および増殖能を持つことによりGABA作動性神経細胞前駆細胞を単離する工程を含む。